



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

Anémie hématie falciforme (Drépanocytose)

Présenté par : ouakkaf yousra

Encadré par : Pr El Abida kaouakib

Dr Bougrine nawal

Soutenu le :07 / 07 / 2021

Devant le jury composé de :

- **Pr sefroui samira**

Stage effectué à : Laboratoire Bensouda Fés

Année universitaire 2020-2021

Dédicaces

C'est avec profonde gratitude et sincères expressions, que je dédie cet humble travail à mes chers parents ; qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et m'ont éclairé le chemin par leurs conseils savants.

J'espère qu'un jour, je pourrais leurs rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi. Que dieu leurs prête bonheur et longue vie.

Je dédie aussi ce travail à mes frères, ma famille, mes amis, tous mes professeurs qui m'ont enseigné et plus précisément mon cher professeur et encadrante Madame El Aabida kaouakib pour son soutien et apprentissage qui nous a donné tout au long de cette année.

Ainsi que mon encadrante au sein du laboratoire Dr Nawal Bougrine qui n'a pas cessé de me donner tous qui me sert à la réalisation de ce rapport.

Remerciements

Avant d'entamer mon mémoire de fin d'études, il m'est agréable d'exprimer ma profonde gratitude à ceux qui m'ont apporté de l'aide précieux et qui ont eu la gentillesse de faire de ce mémoire un moment très formidable et profitable.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé de différentes façons à la réussite de mon rapport et plus particulièrement ma famille, mes amis et mon encadrante (Madame EL Abida Kaouakib) et mon jury (Madame Samira Sefrioui) qui a accepté de participer et juger mon projet de fin d'études.

Sommaire

Dédicaces

Remerciements

Listes des figures

LISTE DES ABRÉVIATIONS

PRÉSENTATION LIEU DE STAGE

Introduction.....	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....	2
I Généralité sur la drépanocytose.....	4
1 Définition.....	4
2 Structure de l'hémoglobine	4
3 L'hémoglobine drépanocytaire (l'hémoglobine S)	7
4 génétiques	7
II épidémiologie.....	8
1 la drépanocytose et paludisme	8
2 répartitions dans le monde.....	9
3 répartitions dans le Maroc	9
III les complications	10
1 Complications aiguës	10
2 Complications chroniques	12
IV diagnostics	12
1 Diagnostic prénatale.....	12
2 diagnostics biologiques	13
V Thérapeutique	15
1 Traitements pharmacologiques	15
2 Transfusion sanguine	16
3 la greffe de moelle osseuse.....	16
MATÉRIEL & MÉTHODES	18
I Matériel.....	19
1 Appareils utilisés.....	19
2 Les réactifs.....	20

II Méthodes.....	21
1 Hémogramme	21
2 Frottis sanguin	21
RÉSULTATS	23
<i>Références</i>	30

Listes des figures

Figure 1: la différence entre le globule rouge normale et falciforme	4
Figure 2:la structure de l'hémoglobine.....	5
Figure 3:la structure de l'hème	6
Figure 4 :localisation des gènes des globines.....	6
Figure 5:chaînes d'hémoglobines présentes à différents moments de la vie.....	7
Figure 6:le mode de transmission de la drépanocytose	8
Figure 7:les régions de la répartition de paludisme et drépanocytose	8
Figure 8:répartitions de la drépanocytose au monde	9
Figure 9:répartitions de la drépanocytose au Maroc	10
Figure 10:le syndrome dactylie	11
Figure 11:frottis sanguins d'hématite falciforme	13
Figure 12:frottis sanguins réalisé après le test d EMMEL	14
Figure 13:test d'ITANO.....	14
Figure 14:appareil de SYSMEX XS 1000i.....	19
Figure 15:Appareil de BIO RAD D10.....	20
Figure 16: les étapes de préparation du frottis sanguin	22
Figure 17:Hémogramme d'un enfant 6 mois	24
Figure 18:examen microscopique du frottis sanguin d'un enfant 6 mois	25
Figure 19:test d'hémoglobine d'enfant 6 mois	25
Figure 20:Hémogramme d'un enfant 5 ans	26
Figure 21:examen microscopique du frottis sanguin d'un enfant 5ans	27
Figure 22:test d'hémoglobine d'enfant 5ans	27

Liste des Abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AS : Génotype du porteur du trait drépanocytaire

AVC : accidents Vasculaire cérébraux

CLHP : Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance

CVO : Crise Vaso-Occlusives

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique

GR : Globule Rouge

HbA : Hémoglobine Adulte

HbF : Hémoglobine Fœtale

HbS : Hémoglobine Sickle

HU : Hydroxyurée

MGG : May-Grunwald Giemsa

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

SS : Génotype du sujet drépanocytaire homozygote

TCMH : Teneur Corpusculaire Moyen en Hémoglobine

VGM : Volume Globulaire Moyen

Présentation lieu de stage

Le laboratoire BENSOUDA est un laboratoire d'analyses médicales privé dirigé par Docteur BOUGRINE Nawal et créé en 01/2020, assurant la réalisation de nombreuses analyses de biologie dans différents secteurs :

- Immunologie,
- Biochimie,
- Sérologie,
- Hématologie,
- Bactériologie,
- Parasitologie

Le laboratoire se caractérise de plusieurs services à savoir ;

Salle de réception

Salle d'attente

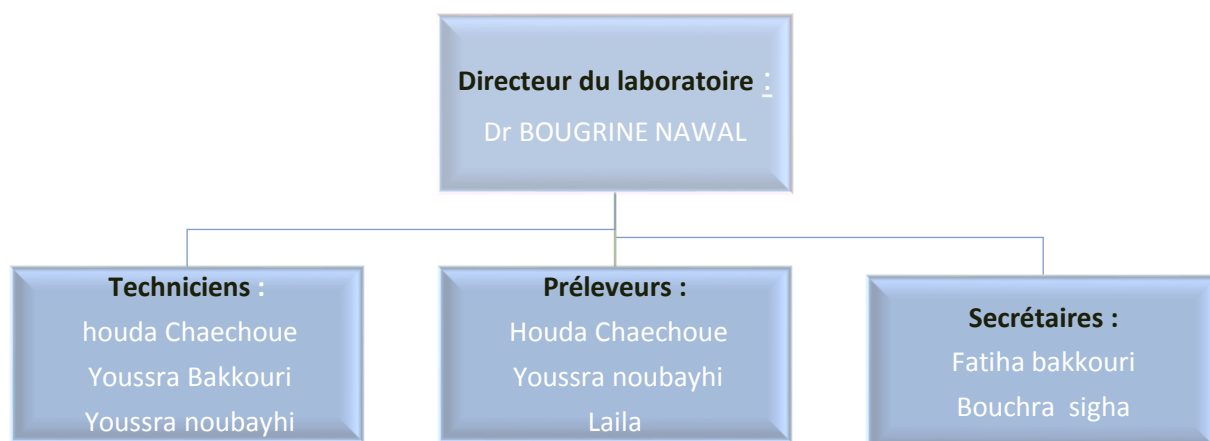
Un bureau de médecin

Deux salles de prélèvements

Salle technique

Salle bactériologie

Organigramme de laboratoire



Horaires de travail

Les différents employés s'organisent de façon à ce qu'il y ait une équipe au laboratoire de 7h00 à 19h30 et autres équipe 9h00 à 18h00 et sera change chaque jour Horaire de 7h00 à 19h30 (parfois plus tard s'il reste des analyses à faire) Pendant mon stage j'ai pu observer et m'exercer sur un secteur de l'hématologie, J'ai aussi découvert une véritable équipe de travail et les responsabilités qui incombent à chacun.

Introduction

Ce rapport est issu d'un stage effectué au Laboratoire Médicale BENSOUDA à FES pendant deux mois du 26 Avril au 18 juin 2021, dans le cadre d'un mémoire de fin d'étude de la licence Science Biologie Appliquées et Santé (LST- SBAS) de l'Université Sidi Mohammed Ben Abdellah des Sciences et Techniques.

La drépanocytose, appelée encore anémie falciforme, Sicklémie, à l'hémoglobinopathie la plus fréquente. Elle est transmise sur le mode autosomique récessif et résulte d'une mutation au niveau du 6 -ème codon de la chaîne β de la globine sur le chromosome 11. Cette mutation provoque la synthèse d'une hémoglobine anormale appelé hémoglobine S

Le mécanisme principal impliqué dans la physiopathologie de la drépanocytose est la polymérisation de l'hémoglobine à l'état désoxygéné est à l'origine d'une anémie hémolytique chronique et de phénomènes vaso-occlusifs.

La drépanocytose affecte surtout les sujets de race noire car elle plus fréquente dans le continent d'Africain. Aussi les zones de forte endémie drépanocytaire coïncident avec les zones d'infestation par le Plasmodium falciparum. Cette fréquence est le résultat d'une sélection naturelle, le Plasmodium ne pouvant poursuivre son cycle dans des GR contenant de l'Hb S.[4]

L'objectif de notre travail est de rapporter les aspects physiopathologiques et diagnostiques de la drépanocytose

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Historique

- En 1874, un médecin africain de l'armée britannique originaire de Freetown, « James Beal » Africanus Horton, décrit une *rhumatique Fever*, équivalent clinique de la drépanocytose, correspondant aujourd'hui à une crise vaso-occlusive osseuse
- En 1910, Ernest Irons et James Herrick sont découvertes des globules rouges anormales à partir du cas de Walter Clement Noel, un étudiant en odontologie d'une vingtaine d'années originaire de la Grenade
- En 1910 un patient souffrait de toux, de fièvre, de vertiges, de maux de tête et d'un état de faiblesse, et ressentait des palpitations et un essoufflement, comme certains membres de sa famille. Son sang montrait qu'il était très anémique, le nombre de ses globules rouges n'atteignant que la moitié de la valeur normale. L'observation d'un frottis sanguin montra des globules rouges de forme inhabituelle en faucille, c'est-à-dire « falciforme », résultat publié en novembre 1910.
- En 1917, Victor E. Emmel parvint à reproduire la falciformation *in vitro* chez certains sujets cliniquement sains, et conclut à l'existence de deux formes de la maladie. Par la suite, des études familiales envisagèrent l'hypothèse d'une transmission héréditaire autosomique récessive avec des formes manifestes et des formes latentes ou silencieuses.
- En 1922 employait pour la première fois le terme « anémie falciforme » pour définir cette maladie.
- la fin des années 1940 et le début des années 1950 La compréhension des liens entre paludisme et drépanocytose et nature précise de l'altération moléculaire conduisant à l'hémoglobine S (mutation d'un acide aminé sur la chaîne β de l'hémoglobine) fut précisée par le Britannique Vernon Ingram.
- En 1956 et que l'affinage des techniques d'électrophorèse de l'hémoglobine
- En 1978, Tom Maniatis isola le gène HBB de la chaîne bêta de l'hémoglobine sur le chromosome 11.
- en 2002 La preuve épidémiologique de la protection de la drépanocytose contre le paludisme à *P. falciparum* [1]

I- Généralité sur la drépanocytose

1- Définition

La drépanocytose, ou hémoglobinose S appelée aussi anémie à cellules falciformes, est une maladie des globules rouges (GR) qui sont déformés par une cristallisation anormale de l'hémoglobine cette cristallisation résulte d'une mutation de la chaîne β de la globine. Les GR falciformes ont généralement une durée de vie courte, d'environ 10 à 20 jours au lieu des 120 jours, car les GR anormales sont fragiles et favorisent leur destruction précoce (hémolyse) et éventuellement conduire à une anémie régénérative. [fig1]

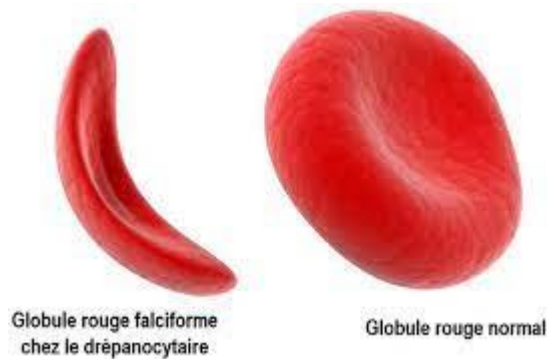


Figure 1: la différence entre le globule rouge normale et falciforme

Source : Anemia falciforme Biblioteca virtual em saude MC

2- Structure de l'hémoglobine

L'hémoglobine est une protéine qui se trouve à l'intérieur des globules rouges, qui sont eux-mêmes produits au niveau de la moelle osseuse. Elle est responsable de la couleur rouge du sang ainsi qu'au transport de l'oxygène des poumons vers les tissus. Elle contribue également, dans une moindre mesure, à l'évacuation des ions H^+ et du CO_2 des tissus vers les poumons.

La molécule d'hémoglobine normale se compose de 4 sous-unités identiques deux à deux, et chaque sous-unité contient une globine et un hème. Chaque hème est porteur d'un atome de fer sur lequel se fixent les atomes d'oxygène. [fig2]

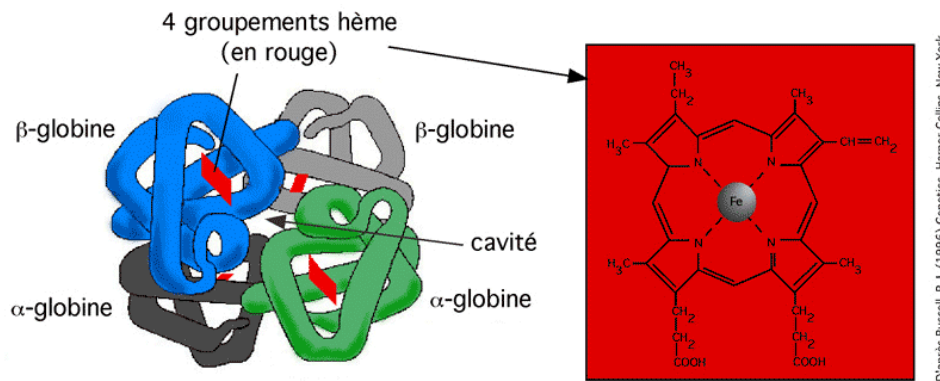


Figure 2: la structure de l'hémoglobine

Source : (Russell, P.J. (1996) Genetics)

■ L'hème :

Hème est composé de Protoporphyrine IX et d'un atome de Fe. Et toujours semblable dans les différentes hémoglobines humaines normales, anormales et animales.

La structure de l'hème : c'est une molécule complexe formée de :

- 4 noyaux pyroles unis par des radicaux méthylène (-CH=)
- 8 chaînes latérales : 4 méthylènes (-CH=), 2 vinyls (-CH=CH₂) et 2 propionyles (CH₂=CH₂-COOH)
- Un atome de fer lie par quatre valences aux quatre atomes d'azote des noyaux pyroles et par deux valences avec les deux atomes d'azote de la globine

L'hème peut fixer une molécule d'oxygène. Lors de la fixation de l'oxygène, l'atome de fer se rapproche de l'histidine proximale. L'oxygène transporté s'interpose entre l'atome de fer et l'Histidine distale. Cette fixation de la molécule d'oxygène par l'hème est réversible [10] [fig 3]

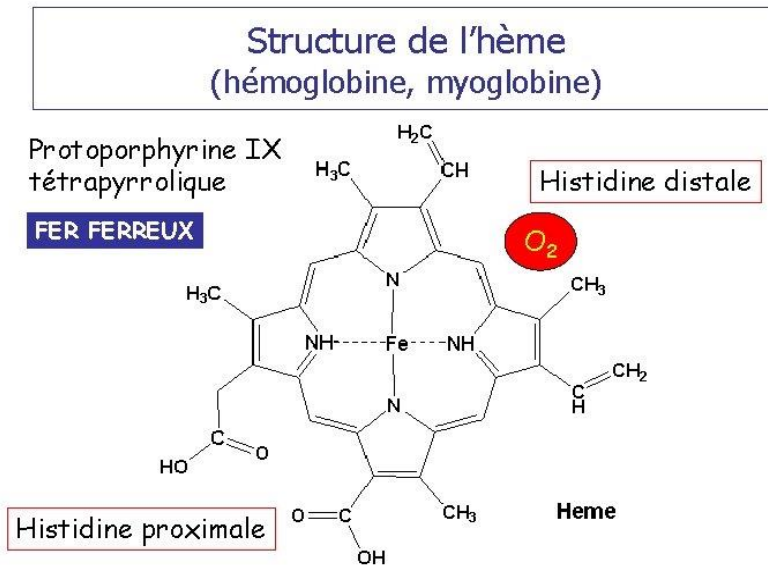


Figure 3: la structure de l'hème

- La globine

La globine correspond à la partie protéique de l'Hb, elle est composée de 4 types de chaînes polypeptidique α , β , γ et δ se différenciant chacune par sa séquence en acides aminés

Plusieurs gènes codent pour ces chaînes polypeptidiques : ceux de l' α -globine se trouvent sur le chromosome 16 et ceux de la β -globine sur le chromosome 11 [10] [fig4]

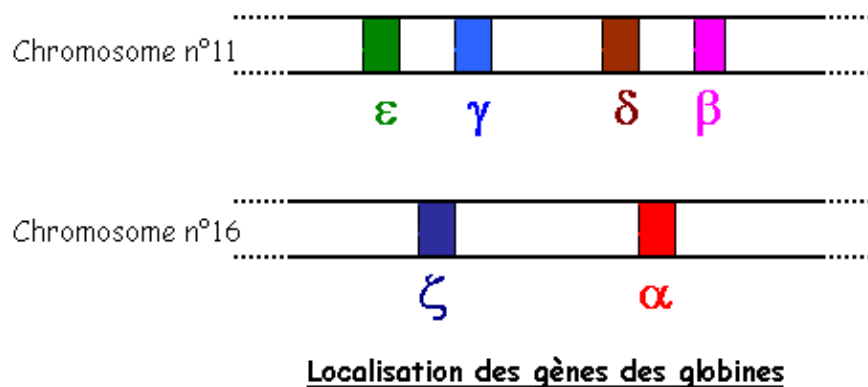


Figure 4 : localisation des gènes des globines

Source : Une famille multigénique, les (hémoglobine et myoglobine)

- Les différentes hémoglobines

Chez l'homme, plusieurs hémoglobines se succèdent au cours de la vie et à tout moment. Ces hémoglobines se distinguent par la nature des sous-unités qui les constituent. Ces modifications

s'effectuent parallèlement au changement du lieu d'érythropoïèse (sac vitellin chez l'embryon, foie, rate et moelle osseuse chez le fœtus, moelle osseuse chez l'adulte normal)

- Chez le fœtus, à partir du 37ème jour, l'Hb fœtale (HbF) formée de 2 chaînes α et 2 chaînes γ : $\alpha_2\gamma_2$ apparaît pour devenir le composant hémoglobinique principal.
- A la naissance, l'enfant a plus d'HbA ($\alpha_2\beta_2$) (20-40%) que d'HbF (60-80%)
- A l'âge adulte, on retrouvera majoritairement l'hémoglobine A, formée des dimères $\alpha_2\beta_2$. Elle correspond à 97% de l'hémoglobine produite [fig5]

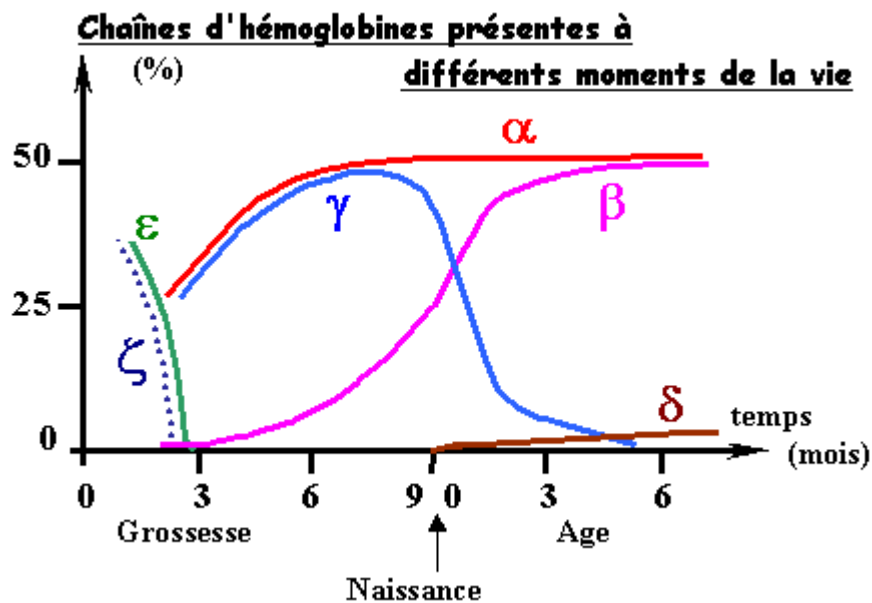


Figure 5: chaînes d'hémoglobines présentes à différents moments de la vie

Source : Une famille multigénique, les (hémoglobine et myo) globine

3- L'hémoglobine drépanocytaire (l'hémoglobine S)

La synthèse de l'hémoglobine anormale HbS est un résultat de la mutation sur le chromosome 11 du 6 -ème codon de la chaîne β -globine de l'hémoglobine, entraînant la substitution d'un acide glutamique (hydrophile) par une valine (hydrophobe) au niveau de la β -globine

Cette mutation a conduit à la polymérisation de l'Hb à l'état désoxygéné

4 -génétiques

La drépanocytose est transmise selon le mode autosomique récessif. Pour développer la maladie il faut que les deux parents transmettent le gène malade, La personne atteinte de

drépanocytose possède donc les deux gènes altérés on dit qu'elle est homozygote SS. Un individu porteur sain n'en possèdera qu'un on dit alors qu'il est hétérozygote AS [fig6]

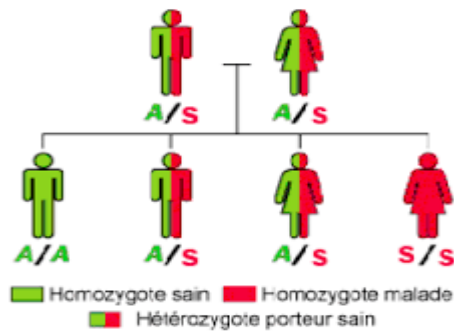


Figure 6: le mode de transmission de la drépanocytose

Source : Drépanocytose : le combat des femmes afro-descendantes contre le dépistage ethnique

II- épidémiologie

1- la drépanocytose et paludisme

Le paludisme est une maladie tropicale résultant de l'infection par le parasite *Plasmodium falciparum* transmis par piqûre de moustique (*Anophèle*). Les symptômes du paludisme résultent du développement de *P. falciparum* dans les GR. Depuis des siècles, le paludisme a exercé des pressions sur le génome humain, sélectionnant des mutations conférant une protection contre les formes sévères de la maladie. C'est le cas de la mutation du gène de l'hémoglobine (HbA) [2] [fig7]

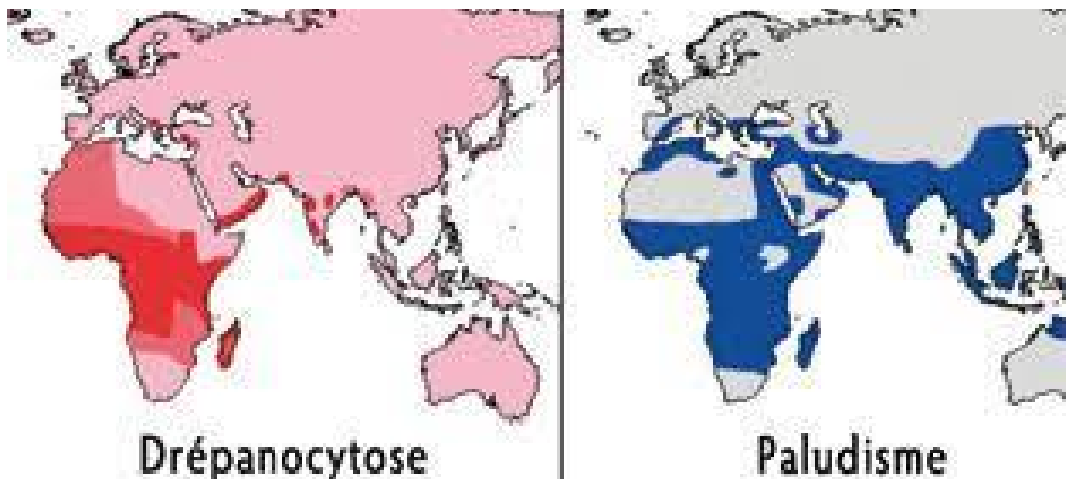


Figure 7: les régions de la répartition de paludisme et drépanocytose

Source : La drépanocytose : une protection contre le paludisme

2- répartitions dans le monde

Dans certaines zones, la prévalence du génotype hétérozygote AS peut atteindre 25 % à 30 % de la population. En 2016 l'OMS, 300000 enfants naissent avec cette maladie dans le monde chaque année. En France métropolitaine, 10000 personnes sont touchées, 2000 en Martinique et 1500 en Guadeloupe.

Dans les pays d'Afrique de l'Ouest (Ghana et Nigéria), la fréquence du trait drépanocytaire atteint 15 à 30 %. [7] [fig8]

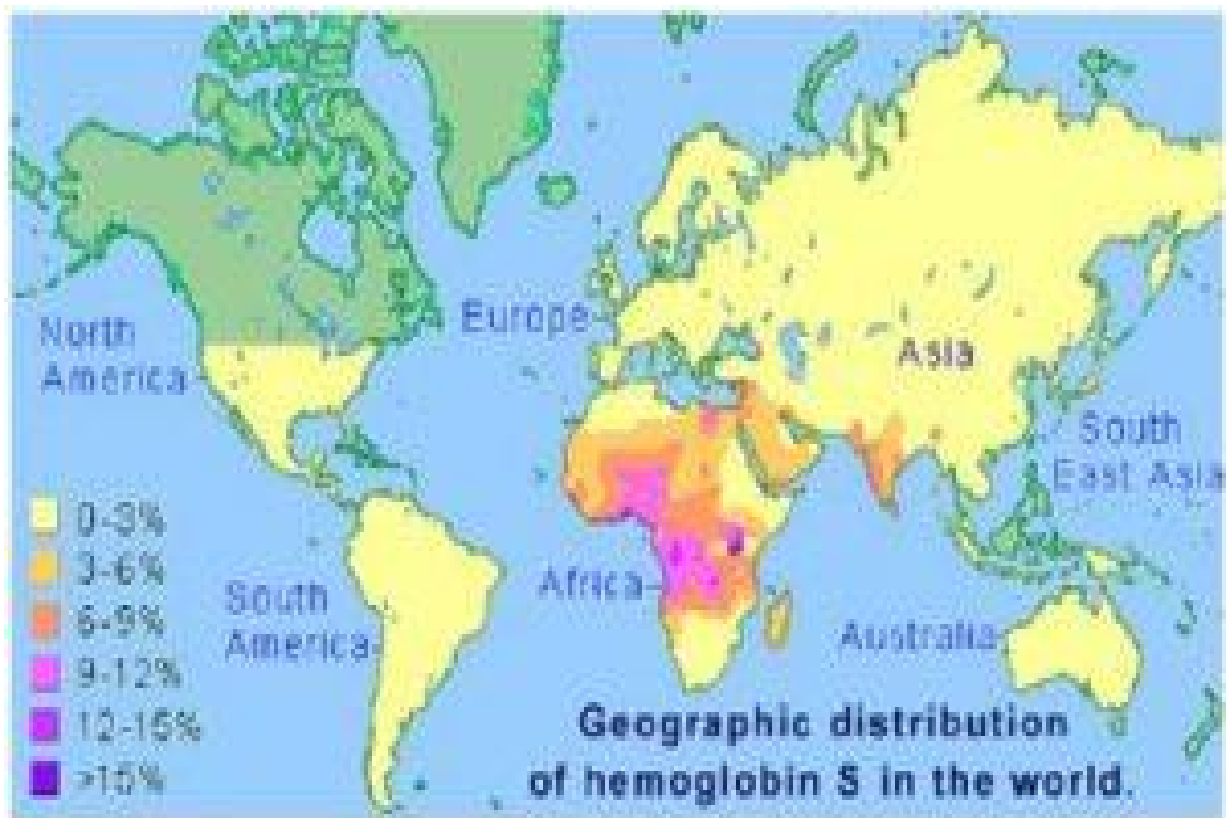


Figure 8:répartitions de la drépanocytose au monde

Source : drépaconseils : la drépanocytose : la Maladie

3- répartitions dans le Maroc

L'OMS estime le taux des porteurs au Maroc à 6.5%, ce qui laisserait supposer l'existence de 30.000 cas de formes majeures de thalassémie et drépanocytose au Maroc [fig9] [11]

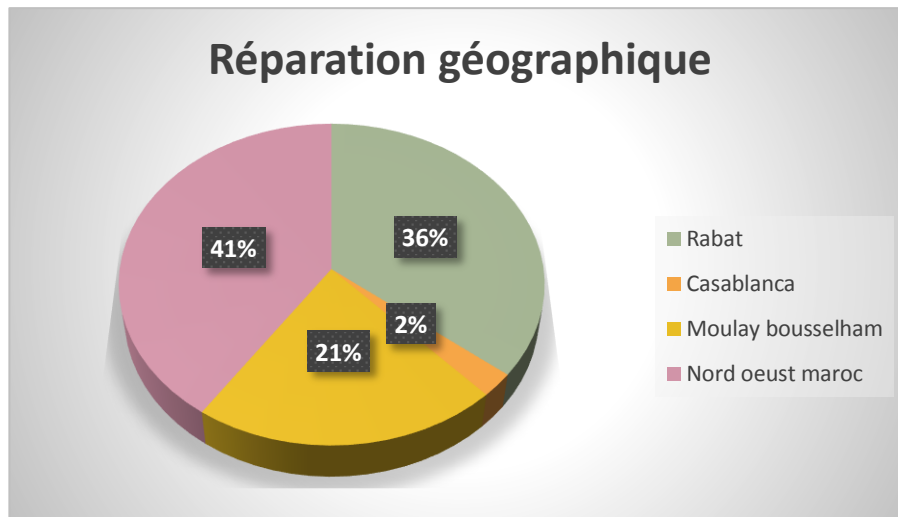


Figure 9:répartitions de la drépanocytose au Maroc

III les complications

Les complications de la drépanocytose sont multiples et sont deux types aigüe et chronique

1 Complications aiguës

Parmi les complications aiguës se trouvent :

- **Aggravation de l'anémie**

L'anémie est souvent le premier signe de la maladie. Elle se traduit par une pâleur et une fatigue chronique, parfois par une jaunisse (ictère). La survenue d'une anémie aiguë doit faire évoquer d'abord des causes classiques comme les hémorragies, les prises médicamenteuses. Certaines complications spécifiques particulièrement fréquentes lors d'une drépanocytose doivent également être recherchées comme la nécrose médullaire aiguë, l'infection par le parvovirus B1 et séquestration splénique

- **Crises douloureuses drépanocytaires**

Désignées sous le terme de crises vaso-occlusives (cvo), Il s'agit d'une complication très caractéristique de cette pathologie

Ce sont des accès douloureux soudains extrêmement violents. Ils sont provoqués par l'agglutination des globules rouges qui vont alors empêcher la circulation sanguine et priver d'oxygène un organe engendrant ainsi les douleurs. Cette crise vaso-occlusive peut toucher différentes parties du corps : abdomen, thorax, os, articulations, yeux, cerveau...

Chez l'enfant de moins de 2 ans, on retrouve le syndrome pied-main appelé (dactylie), syndrome thoracique aigu et accident vasculaire cérébral (AVC) [3]

Le syndrome pied-main (dactylie)

L'enfant atteint est âgé de 6 mois à 2 ans. Il présente une tuméfaction douloureuse des mains et/ou des pieds avec une difficulté d'immobilisation des membres. [4]
[fig10]



Figure 10:le syndrome dactylie

Source : Gonflement mains/pieds| drepanoclic

Le syndrome thoracique

Le syndrome thoracique est défini par l'association de fièvre ou de symptômes respiratoires avec un infiltrat pulmonaire constaté sur une radiographie et il s'exprime le plus souvent par une toux, une douleur thoracique et une dyspnée [5]

Accidents vasculaires cérébraux

Lorsque les vaisseaux qui amènent le sang au cerveau sont obstrués, ce dernier n'est plus assez oxygéné ce qui peut provoquer des accidents graves, appelés accidents vasculaires cérébraux. Ces AVC peuvent correspondre à un arrêt de la circulation dans le cerveau (ischémie).

Les Facteurs favorisant la survenue des crises vaso-occlusives :

- Déshydratation, Effort intense ou prolongé, Infection.
- Variations de la météo : vent, sécheresse, froid, canicule.
- Stress physique ou psychologique, consommation d'alcool, période des règles.

▪ Infection

Chez la plupart des patients atteints de drépanocytose, la rate augmente de volume au cours de l'enfance parce que les globules anormaux sont piégés dans la rate. Les

personnes atteintes de drépanocytose sont donc plus Susceptibilité accrue aux infections parce que la rate contribue à lutter contre les infections.

Les infections les plus graves chez l'enfant : Pneumopathie, ostéomyélites (salmonelles et les staphylocoques) et Les méningites, les septicémies à pneumocoque

2- Complications chroniques

Parmi les complications chronique se trouvent :

- Atteinte cardiaque

L'anémie s'accroît souvent et conduit à une augmentation compensatrice et cœur qui devient plus musclé et volumineux et le débit de la pompe cardiaque augmente. Chez certaines personnes, avec l'âge le cœur perd en efficacité (insuffisance cardiaque) [6]

- Atteinte rénale

Les reins peuvent également être atteints. Cela se traduit le plus souvent par la présence à albumine dans les urines. Le mauvais fonctionnement des reins progresse plus rapidement vers une insuffisance rénale chronique.

- Hépatomégalie

Chez les drépanocytoses plusieurs substances peuvent s'accumuler dans le foie particulière le fer à cause d'hémolyse des globules rouges et provoque une augmentation de son volume s'appelle hépatomégalie. La répétition des agressions peut aboutir à un dysfonctionnement du foie.

- Lithiase biliaire

La bilirubine est le pigment produit suite à la destruction des GR fragiles. Son accumulation dans la vésicule biliaire provoque la formation de calculs biliaires. [6]

IV- diagnostics

Le diagnostic de drépanocytose repose dans tous les cas sur l'identification formelle de l'HbS. Il doit être accompagné d'une enquête familiale du patient

1- Diagnostic prénatale

Si le couple a déjà eu un enfant atteint de la drépanocytose ou si les parents se sont porteurs de l'anomalie génétique, il est possible de réaliser un diagnostic prénatal pour les grossesses ultérieures. Le but du diagnostic prénatal est de déterminer au cours de la grossesse si l'enfant à naître est porteur ou non de la maladie, il permet de rechercher la mutation dans l'ADN foetal circulant en petite quantité dans le sang de la mère ou sur l'ADN du foetus grâce à

un prélèvement au niveau du placenta (choriocentèse) ou du liquide amniotique (amniocentèse) en début de grossesse.

2- diagnostics biologiques

- Hémogramme

Cet examen révèle une anémie et les taux d'Hb vont se situer entre 6 et 9 g/dl. L'origine de cette anémie est une hémolyse chronique. L'anémie est normocytaire (VGM normal 80-98 fl) et normochrome (TCMH normal >27pg). Le taux de réticulocytes est élevé, supérieur à 150G/l (anémie régénérative), et la numération des leucocytes et des plaquettes est normale.[7]

- Frottis sanguin

L'examen du frottis sanguin révèle la présence d'hématies en forme allongés « faucille » ou drépanocytes [fig11]

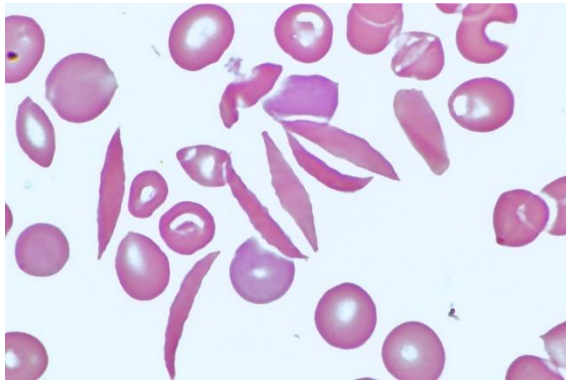


Figure 11:frottis sanguins d'hématite falciforme

Source : SVToline - première S TP6

- Le test d'EMMEL ou test de falciformation

Il s'agit d'un test simple consistant à provoquer in vitro la désoxygénation puis la polymérisation de l'hémoglobine. Après incubation d'une goutte de sang avec une substance réductrice comme le métabisulfite de sodium, on observe au microscope la falciformation des hématies [7] [fig12]

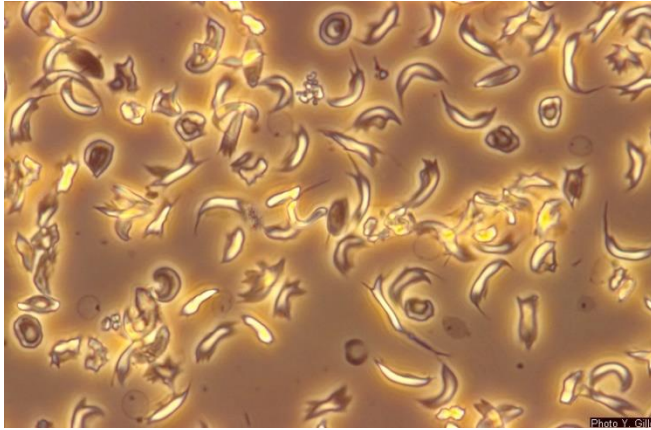


Figure 12:frottis sanguins réalisé après le test d EMMEL

Source : Test d'Emmel : recherche hémoglobine S dans la drépanocytose

- Le test d'ITANO ou test de solubilité

Ce test met en évidence in vitro la polymérisation de l'hémoglobine S et son caractère insoluble, dont l'activité est fortement accrue par l'utilisation d'un tampon phosphate de force ionique élevée. En présence d'HbS et à température ambiante, un trouble apparaît. [7] [fig13]



A

B

Figure 13:test d'ITANO

A : Témoin normal

B : Présence d'HbS

Source : a11-hemoglobinopathies-kaddari-moradkhani

- **Electrophorèses de l'hémoglobine**

L'électrophorèse de l'hémoglobine permet de différencier les homozygotes des hétérozygotes, Les hémoglobines anormales ont un comportement électrophorétique différent [7]. Il existe deux techniques :

- la technique d'électrophorèse sur acétate de cellulose à pH alcalin : L'HbS est caractérisée par une mobilité plus lente que l'HbA

- la technique d'électrophorèse sur agar à pH acide : Cette technique complète l'électrophorèse à pH alcalin. La migration d'une hémoglobine anormale en agar dépend d'abord de la localisation de la mutation et secondairement du changement de la charge

- **Chromatographie**

C'est une étape indispensable pour préciser le diagnostic des syndromes drépanocytaires. Très sensible et très spécifique, cette technique permet la séparation d'un très grand nombre d'hémoglobines par échange sur des résines cationiques. De plus les différentes fractions HbA, HbA2, HbF et HbS sont présentes même à de faibles taux, peuvent être quantifiées. [7]

- **Bilan de l'hémolyse**

Le bilan de l'hémolyse montre une hyperbilirubinémie indirecte, une élévation des LDH et une diminution de l'haptoglobine avec hypersidérémie.[6]

V- Thérapeutique

La drépanocytose fait l'objet de nombreuses recherches visant à en développer un traitement. Plusieurs méthodes ont été mises au point et sont utilisées, mais aucune thérapeutique ne s'avère parfaitement efficace et ni parfaitement tolérée. Les principaux traitements utilisés sont traitements pharmacologiques, la transfusion sanguine et la greffe de la moelle osseuse.

1- Traitements pharmacologiques

Les traitements pharmacologiques sont les plus fréquemment appliqués en premier lieu en fonction de l'âge du patient et son profil phénotypique et clinique.

- **Hydroxyurée**

Les mécanismes d'actions de l'HU reposent sur l'augmentation de l'hémoglobine F et ainsi réduit la polymérisation dans les GR drépanocytaires. En effet l'HU augmente le nombre des GR contenant de l'hémoglobine F et enfin la diminution de l'intensité de l'hémolyse, après un mécanisme encore inconnu [7]

- La prise en charge des douleurs

Les crises douloureuses constituent la première cause de consultation ou d'hospitalisation. Lorsqu'une crise commence, on peut d'abord prendre à domicile des médicaments antidouleurs (antalgiques) recommandés par le médecin. Il peut s'agir par exemple d'aspirine, de paracétamol ou d'ibuprofène. Ces médicaments permettent également de faire baisser la fièvre.

Si le malade a toujours mal après ses premières mesures des antidouleurs plus forts comme la morphine ou ses dérivés sont prescrits pour soulager le malade.[6]

2- Transfusion sanguine

La transfusion apporte des GR contenant d'hémoglobine A. Elle est utilisée dans le traitement d'urgence de certaines complications graves. Il

existe trois modalités différentes de la transfusion sanguine chez la drépanocytaire : la transfusion sanguine simple, l'échange transfusionnel et la transfusion sanguine au long cours.

- Transfusion sanguine simple

Transfusion simple dans les cas d'anémie aiguë. - Hémolyse aiguë - Séquestration splénique - Infection par le parvovirus
Le taux d'Hb habituel des drépanocytaires homozygotes SS est compris entre 6 et 9 g/dL et L'objectif de la transfusion sanguine simple est de ramener un taux d'Hb à sa valeur physiologique.

- Échange transfusionnel

L'objectif de l'échange transfusionnel est de remplacer les hématies drépanocytaires par des hématies contenant de l'HbA
L'échange transfusionnel consiste en une procédure automatisée au cours de laquelle on prélève des globules rouges du patient drépanocytaire et, dans le même temps, on transfuse des GR sains d'un donneur de sang.

- Programmes de transfusion sanguine au long cours

. Ces programmes ont pour objectif de maintenir en permanence le taux d'HbS au-dessous de 20, 30 ou 40 % selon l'indication clinique et transfusions sont régulières toutes les 3-4 semaines

3- la greffe de moelle osseuse

La greffe de moelle osseuse consiste à remplacer la moelle qui fabrique les GR falciformes par une moelle saine (prélevée sur un membre de la famille « compatible ») qui

fabriquera des globules rouges normaux. Cette procédure est réservée à un très petit nombre de malades présentant une forme très sévère de la maladie ou ayant un risque de mortalité précoce, c'est une opération qui nécessite un traitement très lourd et peut entraîner des complications graves potentiellement mortelles. Il s'agit d'une hospitalisation d'au moins six semaines pendant lesquelles le risque d'infection est élevé parce que le malade est sans défenses immunitaires durant cette période [6]

MATÉRIEL & MÉTHODES

I- Matériel

1- Appareils utilisés

Pour la réalisation de ce travail, nous avons utilisé l'automate SYSMEX XS 1000i pour déterminer la formule sanguine complète et l'automate BIO RAD D 10 pour le dosage de l'hémoglobine

SYSMEX XS 1000i

L'analyseur SYSMEX XS 1000i utilise La technologie fluorescente et la focalisation hydrodynamique permettent aux analyseurs de classer de façon constante des populations normales de globules blancs (WBC), de globules rouges (RBC) et de plaquettes (PLT) par rapport à des populations anormales

L'échantillon est éclairé par un faisceau laser à semi-conducteur, qui peut séparer les cellules à l'aide de trois signaux différents :

- Lumière diffusée vers l'avant (forward scatter ou FSC)
- Lumière diffusée latéralement (side scatter ou SSC)
- Lumière de fluorescence latérale (fluorescence latérale ou SFL).[8]

[fig14]



Figure 14:appareil de SYSMEX XS 1000i

Source : Hematologi intermedica

BIO RAD D 10

L'appareil D-10 fournit des tests d'hémoglobine complète HbA1c et HbA2/F/A1c et aussi HbS sur une seule plateforme. Et il utilise des méthodes de chromatographie d'échange d'ion et aussi utilisant une technique de HPLC [9] [fig2]

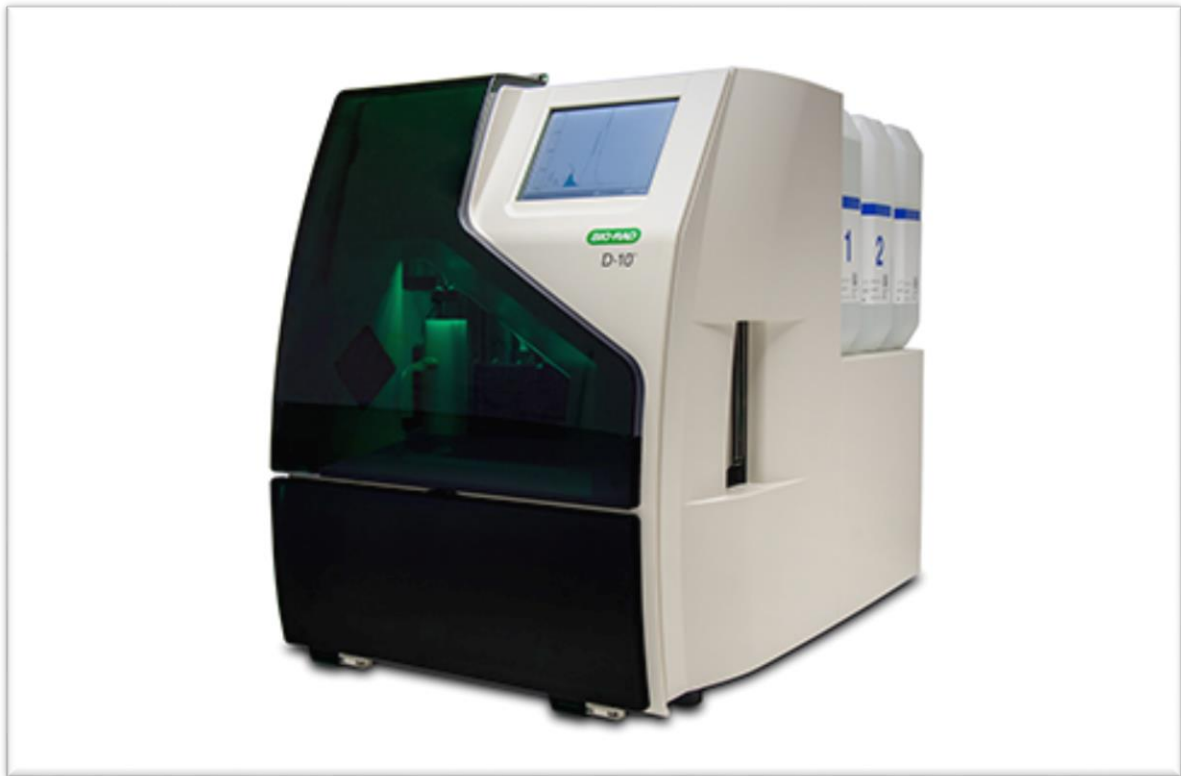


Figure 15:Appareil de BIO RAD D10

Source : Système D10| diagnostic clinique| Bio Rad

2- Les réactifs

Les réactifs nécessaires de réaliser cette manipulation sont : Colorant de May-Grunwald et Giemsa

 Colorant de May-Grunwald

Un colorant basique : le bleu de méthylène sous forme d'éosinate de bleu de méthylène

 Colorant de Giemsa

Un colorant acide : l'éosine

Un colorant basique : les azures de méthylène sous forme d'éosinate d'azur de méthylène.

Ces deux colorants sont en solution dans l'alcool méthylique sous forme inactive

Lors de l'addition d'eau, les sels précipitent (éosinate de méthylène et azur de méthylène) et se fixent sélectivement sur les constituants cellulaires

II- Méthodes

1- Hémogramme

L'hémogramme est le premier examen biologique utilisé pour dépister l'analyse quantitative (numération) et qualitative (formule) des éléments figurés du sang : hématies (globules rouges ou érythrocytes), leucocytes (globules blancs) et thrombocytes (plaquettes), et explorer et suivre la plupart des hémopathies.

Il est réalisé à partir d'un échantillon de sang prélevé par ponction veineuse et recueilli dans un tube contenant un anticoagulant sec de type EDTA

2- Frottis sanguin

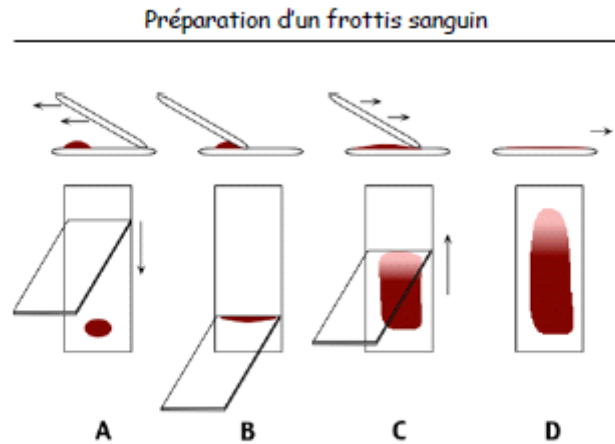


Préparation du frottis sanguin

Un frottis sanguin sera réalisé à partir du tube, ou mieux à partir de sang qui n'a pas été mis en contact avec l'anticoagulant. L'identification précise des cellules et de leurs anomalies

Protocole :

- 1 Prélèvement du volume de sang
- 2 Dépôt d'une goutte à l'extrémité d'une lame
- 3 Placer sur la goutte une lamelle inclinée à 45° de façon à ce que le sang s'étale sous la lamelle
- 4 Faire glisser la lamelle maintenue à 45° le long de la lame
- 5 Sécher la lame en l'agitant dans l'air. [fig16]



Permet d'évaluer le nombre et la morphologie des cellules sanguines

Figure 16: les étapes de préparation du frottis sanguin

Source : Réalisation d'un frottis sanguin coloré

✚ Coloration de frottis par MGG

- 1- On a placé la lame sur un support horizontal situé au-dessus d'un bac de coloration
- 2- On a Met la colorant May-Grunwald pure de façon à recouvrir complètement la frottis
- 3- On a laissé agir 3 minutes puis on lave avec l'eau
- 4- On a Met la colorant Geimsa Diluer 1/10 et laisser agir 10 à 15 minutes
- 5- On a lavé la lame avec l'eau
- 6- On a laissé sécher la lame à l'air en position inclinée et doucement
- 7- On a Observé du frottis coloré au microscope optique à l'objectif 100.

✚ Examen du frottis

L'examen permet de juger de la qualité de l'étalement, mais aussi d'étudier la forme des GR. Le pourcentage cellule drépanocytose et la forme falciforme dont notes

3- L'étude de l'hémoglobine

Le prélèvement pour le dosage de l'hémoglobine doit être réalisé sur tube EDTA et déterminé par technique chromatographique HPLC

Le technique d'HPLC sont actuellement utilisées pour le dosage de l'HbA, l'HbA2, l'HbF, avec possibilité de dosé l'hémoglobinopathie (HbS).

RÉSULTATS

Le diagnostic de la drépanocytose repose dans tous les cas sur l'identification formelle de l'HbS par la chromatographie accompagnée d'un Hémogramme. Cette étude a été effectuée sur deux cas cliniques : un enfant de six mois et un enfant de cinq ans [12]

- Cas 1 : enfant de six mois

Résultat de l'hémogramme

HEMATOLOGIE				NUMERATION FORMULE SANGUINE		Valeurs usuelles
NUMERATION GLOBULAIRE						
	LEUCOCYTES	:	4 000	/ μ l		4000 - 10000
•	HEMATIES	:	2,69	Millions/ μ l		4 - 5,5
•	HEMOGLOBINE	:	8,9	g/dl		12,5 - 15,5
•	HEMATOCRITE	:	25,8	%		33 - 47
CONSTANTES ERYTHROCYTAIRES						
•	VOLUME GLOBULAIRE (V.G.M.)	:	96	fl		80 - 95
•	CHARGE (T.C.M.H.)	:	33	pg		28 - 32
	CONCENTRATION (C.G.M.H.)	:	34	g/dl		28 - 36
FORMULE LEUCOCYTAIRE						
	Polynucléaires NEUTROPHILES	:	53,2	%	2 128	/ μ l 2000 - 7500
	Polynucléaires EOSINOPHILES	:	2,6	%	104	/ μ l 100 - 400
	Polynucléaires BASOPHILES	:	0,4	%	16	/ μ l < 100
	LYMPHOCYTES	:	32,8	%	1 312	/ μ l 1500 - 4000
	MONOCYTES	:	11,0	%	440	/ μ l 200 - 800
	PLAQUETTES	:	200 000	/ μ l		150000 - 400000

Figure 17: Hémogramme d'un enfant 6 mois

on remarque que le taux d'hémoglobine est de 8g /dl, valeur inférieure à la normale physiologique qui doit être supérieure à 13 g/dl ce qui se traduit par l'atteinte du patient par l'anémie. Pour confirmer le résultat un frottis sanguin est réalisé afin de rechercher des poïkilocytose (anomalie de formes de globules rouges).

L'étude du frottis sanguin

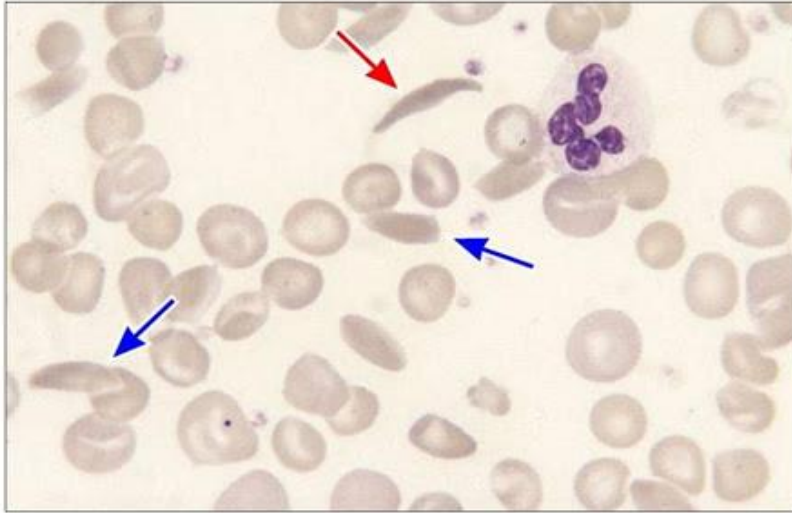


Figure 18: Examen microscopique du frottis sanguin d'un enfant de 6 mois

L'examen du frottis sanguin montre la présence des GR falciformes c-à-d en forme de faussille qui s'explique par la présence d'un état pathologique appelé drépanocytose.

L'étude de l'hémoglobine

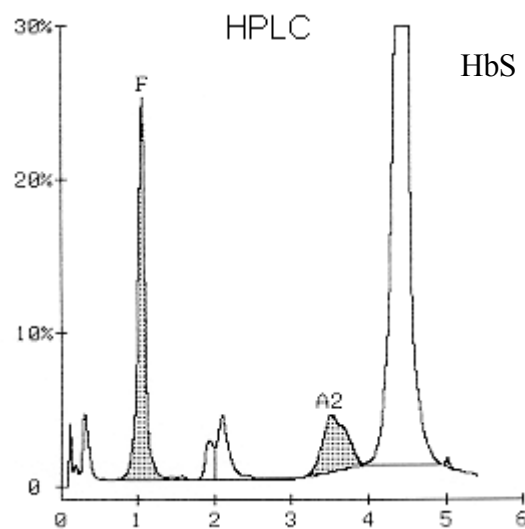


Figure 19: Dosage d'hémoglobine chez un enfant de 6 mois

L'étude chromatographique de l'Hb réalisé pour confirmer la présence de l'Hb S qui se traduit par une forme falciforme caractéristique de la drépanocytose.

- On remarque la présence d'un pic d'HbS à 90%
- Un pic d'HbF à 25%
- Et un pic qui correspond à l'HbA2 de l'ordre de 2-3%. Absence complète d'HbA sur le tracé.

Etude dun 2^{ème} cas clinique: enfant de cinq ans

Résultat de l'hémogramme

HEMATOCYTOLOGIE				
NUMERATION FORMULE SANGUINE				
<i>(sur SYSMEX XS 1000)</i>				
GLOBULES ROUGES	3.99	10 ⁶ /μl	(3.80-5.40)	
Hémoglobine	11.6	g/dL	(11.5-15.0)	
Hématocrite	34.8	%	(37.0-47.0)	
VGM (Volume globulaire moyen)	87.2	fL	(83.0-98.0)	
TCMH	29.1	pg	(27.0-35.0)	
CCMH	33.3	g/dl	(31.0-36.0)	
GLOBULES BLANCS	4 520	/μl	(4 000-10 000)	
Polynucléaires Neutrophiles	60%	Soit	2 712 /μl	(2 000-7 500)
Polynucléaires Eosinophiles	1%	Soit	45 /μl	(40-700)
Polynucléaires Basophiles	0%	Soit	0 /μl	(0-100)
Lymphocytes	30%	Soit	1 356 /μl	(1 000-4 000)
Monocytes	9%	Soit	407 /μl	(200-1 000)
PLAQUETTES	202 000	/ul	(150 000-450 000)	

CCMH= Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

Figure 20:Hémogramme d'un enfant de 5 ans

on remarque le taux d'hémoglobine est normale et correspond à la valeur physiologique.

frottis sanguin

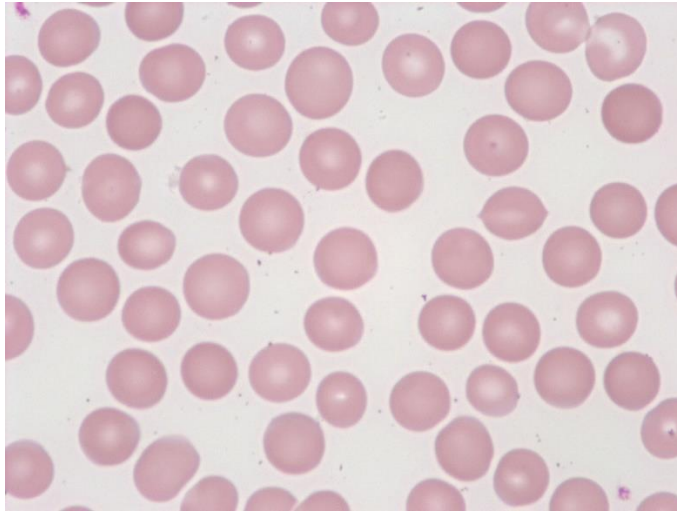


Figure 21: examen microscopique du frottis sanguin d'un enfant de 5 ans

Le frottis sanguin montre la présence de GR normales et l'absence complète de cellules falciformes.

L'étude de l'hémoglobine

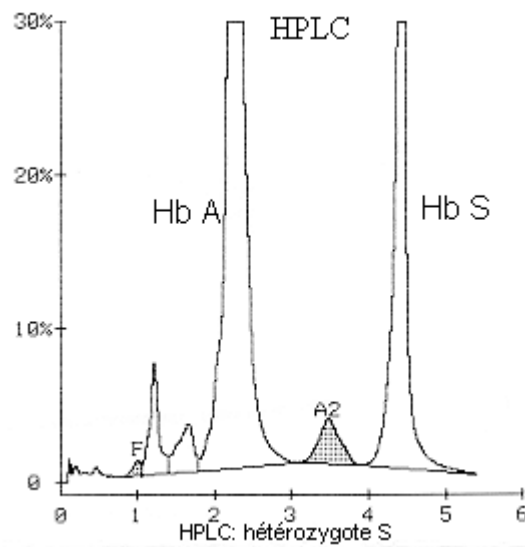


Figure 22: Dosage d'hémoglobine chez un enfant de 5 ans

Le dosage chromatographique de l'Hb réalisé sur un prélèvement sanguin d'un enfant de 5 ans

- On remarque la présence d'un pic d'HbS à 40%
- Un pic d'HbA à 60%
- Et un pic qui correspond à l'HbA2 de l'ordre de 2-3%

Comparaison des deux cas cliniques :

	Enfant 6 mois	Enfant 5ans
Taux hémoglobine	8 g/dl	11,6g/dl
Frottis sanguin	Présence des GR falciforme	Présence des GR normale
Chromatographie Hb	Absence d'HbA Présente d'HbS (90%)	Présente d'HbA (60%) Présente d'HbS (40%)

Tableau 1: Comparaison entre hétérozygote et homozygote

Interprétation :

Pour le 1^{er} cas le taux d'hémoglobine est compris entre 6- 9g/dl et on note l'absence de d'HbA avec présence d'HbS à 90%, Donc c'est un exemple de drépanocytose **homozygote (SS)** (signifie que les deux gènes sont mutés)

Pour le 2^{ème} cas on remarque une valeur normale d'hémoglobine avec un pic d'Hb A à 60%, un taux largement supérieur à l'HbS (40%). Donc ce patient présente une drépanocytose **hétérozygote (AS)** (c-à-d un gène normal et l'autre gène mutée)

Conclusion

La drépanocytose demeure la maladie génétique la plus grave dans le monde. En effet la polymérisation de l'hémoglobine S à l'état désoxygéné entraîne une falciformation du GR qui perd ses propriétés de déformabilité et d'élasticité nécessaires pour passer à travers les petits vaisseaux ce qui rend compte de l'anémie hémolytique expliquant les complications vaso-occlusives de la maladie.

Actuellement, Il existe plusieurs attitudes thérapeutiques qui permettent d'améliorer la prise en charge des patients, mais aucun traitement ne s'avère parfaitement efficace, ni tolérée

Références

- [1] <https://www.apipd.fr/discriminations/lhistoire-de-la-drepanocytose-dates-a-retenir/>
- [2] <https://drepaconseils.org/drepanocytose-la-maladie/>
- [3] <https://www.pharma-gdd.com/fr/drepanocytose-comprendre-l-anemie-falciforme>
- [4] <http://wd.fmpm.uca.ma/biblio/theses/annee-htm/FT/2018/these15-18.pdf>
- [5] https://fr.wikipedia.org/wiki/Syndrome_thoracique_aigu
- [6] <https://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/Drepanocytose-FRfrPub125v01.pdf>
- [7] <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/bitstream/handle/123456789/1889/P962011.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [8] <https://www.nemesislab.com.tr/en/menu/163/sysmex-xs-series-hematology-analyzer.html>
- [9] <https://www.bio-rad.com/en-ma/product/d-10-instrumentation?ID=b69d270d-0aef-473f-ae33-439a56d9128f>
- [10] <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01984727/document>
- [11] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5567958/#:~:text=Au%20Maroc%2C%20l'%C3%A9pid%C3%A9miologie%20des,dr%C3%A9panocytose%20au%20Maroc%20%5B1%5D>
- [12] http://erasmeinfo.ulb.ac.be/globule/Francais/drepa_diag.htm